

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DENGAN METODE PEREDAMAN RADIKAL BEBAS DAN SITOTOKSIK DENGAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT) AKAR BAJAKAH (*Uncaria tomentosa* (Willd ex Schult.) DC)

Jamiatul Hasanah^{1*}, Rudi Kartika¹, Partomuan Simanjuntak²

¹Program Studi Kimia FMIPA Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur 75123

²Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Cibinong, Jalan Raya Bogor KM 46, Jawa Barat

*Corresponding Author, email :jhasanah83@gmail.com

ABSTRACT

The root of the Bajakah (*Uncaria tomentosa* (Willd ex Schult.) DC) is one of the plants found on the island of Borneo. People consume its roots to treat cancer. This research has been carried out in several stages, namely by extraction, partitioning, phytochemical screening, antioxidant test with free radical reduction method and cytotoxic test using the BSLT method. The results showed that the phytochemical screening of the Bajakah root contained alkaloids, flavonoids, triterpenoids, and steroids, saponins and tannins. The antioxidant activity of the ethyl acetate partition has percent inhibition of 72,61%, for ethanol 96% 74,40% and 77,67% in water. The cytotoxic test on the ethyl acetate partition was 48,39 ppm and the water partition was 354,20 ppm.

Keywords : *Bajakah, Antioxidant, Cytotoxic*

ABSTRAK

Tumbuhan akar bajakah (*Uncaria tomentosa* (Willd ex Schult.) DC) merupakan salah satu tumbuhan yang ditemukan di daerah pulau Kalimantan. Masyarakat mengkonsumsi akarnya untuk mengobati kanker. Penelitian ini telah dilakukan dengan beberapa tahap yakni dengan ekstraksi, partisi, skrining fitokimia, uji antioksidan dengan metode peredaman radikal bebas serta uji sitotoksik dengan metode BSLT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa skrining fitokimia dari akar bajakah mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid dan steroid, saponin dan tanin. Aktivitas antioksidan pada partisi etil asetat memiliki %hambatan sebesar 72,61%, pada etanol 96% sebesar 74,40% dan pada air sebesar 77,67%. Uji sitotoksik pada partisi etil asetat sebesar 48,39 ppm dan pada partisi air sebesar 354,20 ppm.

Kata kunci : *Bajakah, Antioksidan, Sitotoksik*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang dikenal sebagai gudang tumbuhan yang mempunyai khasiat obat atau bahan baku obat, namun belum banyak dikaji secara ilmiah. Tumbuhan yang digunakan dalam pengobatan tradisional perlu ditunjang dengan kajian ilmiah sehingga dapat dipastikan kebenaran khasiatnya dan dapat diperoleh data ilmiah mengenai komponen aktif dari bahan nabati tersebut. Salah satu provinsi di Indonesia memiliki kekayaan hayati yang cukup beragam adalah pulau Kalimantan, khususnya yang tinggal di pedalaman masih menggunakan tumbuhan obat secara tradisional karena sangat mudah dijangkau dan masih kurangnya pelayanan kesehatan [5] dimana banyak orang zaman dahulu yang menggunakan obat-obat alami yang berasal dari tanaman yang hingga sekarang masih

dipercaya memiliki khasiat menyembuhkan suatu penyakit. Salah satu tanaman yang belum diuji potensinya secara laboratorium adalah tanaman Akar Bajakah (*Uncaria tomentosa* (Willd ex Schult.) DC).

Studi farmakologis terhadap berbagai jenis tumbuhan genus *Uncaria* menunjukkan adanya sifat sitotoksik, antiinflamasi, antivirus, imunostimulasi, hipotensi, antibakteri dan antioksidan Berdasarkan hasil penelitian Saputera (2019), ekstrak bajakah mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan polifenol [9].

Berdasarkan tinjauan literatur di atas, belum pernah dilakukan penelitian mengenai potensi toksisitas dari akar bajakah. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan studi mengenai toksisitas ekstrak akar bajakah terhadap larva *Artemia salina*

L dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) serta melakukan uji fitokimia dan uji aktivitas antioksidan pada ekstrak akar bajakah (*Uncaria tomentosa* (willd ex schult) DC).

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan antara lain pipet *rotary evaporator*, *hot plate*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet volume, *Tube Lamp* dan corong pisah.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan antara lain akar Bajakah (*Uncaria tomentosa* (willd ex schult) DC, metanol pro analis, larva udang *Artemia salina*, air asin, etanol 96%, etil asetat, pita Mg, pereaksi Lieberman-Burchard, Pereaksi Dragendorf, HCl(p), FeCl₃ 1%, HCl 1%, NaOH 1 N dan DPPH (2,2-dipheynl-2-picrylhidrazin).

Prosedur Penelitian

Determinasi Tumbuhan Akar Bajakah

Tumbuhan akar bajakah diperoleh dari hutan daerah Muara Badak, Kalimantan Timur, kemudian dideterminasi di Laboratorium Anatomi dan Sistematika Tumbuhan Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman. Determinasi tumbuhan akar bajakah dilakukan dengan cara mencocokkan ciri-ciri morfologi yang ada pada tumbuhan terhadap data kepustakaan.

Preparasi Sampel

Sampel akar bajakah dibersihkan kemudian dipotong kecil-kecil dan dikering anginkan. Sampel yang telah kering dihaluskan sampai menjadi serbuk dengan menggunakan alat (*Wood Crusher*) yang dilakukan di laboratorium hasil hutan Fakultas Kehutanan, Universitas Mulawarman.

Ekstraksi Maserasi

Sebanyak 200 gr serbuk akar bajakah dimaserasi dengan pelarut etanol 96% sampai terendam seluruhnya. Maserasi dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Ekstrak yang didapat kemudian dipematkan dengan *rotary evaporator* dengan suhu maksimal 50°C hingga didapat ekstrak pekat.

Partisi

Ekstrak pekat yang dihasilkan dari proses maserasi dilarutkan dalam 50 mL aquadest. Larutan selanjutnya dipartisi dengan menambahkan 100 mL etil asetat, dikocok dalam

corong pisah dan didiamkan hingga terdapat dua lapisan (aquadest pada bagian bawah dan etil asetat pada dibagian atas). kedua lapisan yang terbentuk kemudian dipisahkan, diambil lapisan etil asetat. Hasil partisi diuapkan menggunakan alat rotary evaporator pada suhu 40°C hingga diperoleh hasil partisi pekat.

Uji Fitokimia (Harbone, 1987)

- a. Alkaloid
Uji alkaloid dilakukan menggunakan pereaksi Dragendorff. Sampel yang mengandung alkaloid akan membentuk endapan jingga sampai kecoklatan.
- b. Flavonoid
Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan menggunakan pereaksi serbuk Mg dan asam klorida pekat. Adanya kandungan flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga.
- c. Terpenoid dan Steroid
Uji terpenoid dan steroid dilaukan dengan melarutkan sampel dengan pereaksi Lieberman-Burchard (asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat). sampel yang mengandung senyawa golongan steroid akan berubah warna menjadi hijau kebiruan. Sedangkan senyawa golongan triterpenoid akan berubah warna membentuk cincin coklat.
- d. Saponin
Ekstrak yang diperoleh dilarutkan dengan air dan dipanaskan di atas penangas air hingga mendidih, kemudian dikocok kuat secara vertikal hingga terbentuk busa dan ditambahkan 1 tetes HCl 1 M adanya kandungan saponin ditandai dengan tidak hilangnya busa setelah penambahan HCl 1 M.
- e. Tanin
Ekstrak yang didapatkan dilarutkan dalam air dan dipanaskan diatas penangas air kemudian larutan tersebut ditambahkan beberapa tete larutan besi (III) klorida 1% terbentuknya larutan berwarna biru atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin.

Uji Aktivitas Antioksidan denga Metode Peredaman Radikal Bebas

Sebanyak 10 mg ekstrak ditimbang kemudian dilarutkan ke dalam 10 mL Metanol Pro Analisis. Larutan ini merupakan lartan induk. Sebanyak 0,3 mL larutan induk ekstrak ke dalam tabung reaksi yang telah ditara 3 mL untuk mendapatkan konsentrai 100 ppm, kemudian ditambahkan

larutan DPPH 0,4 mM sebanyak 0,6 mL kemudian ditambahkan metanol Pro Analisis hingga tanda tera 3 mL dan tabung reaksi ditutup dengan aluminium foil. Larutan yang telah dibuat diinkubasi selama \pm 30 menit dan diukur absorbansinya menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Dan diukur nilai % hambatan dari sampel yang diuji, dengan cara memasukkan nilai absorbansinya ke dalam persamaan berikut:

$$\% \text{Hambatan} = \frac{\text{Absorbansi Blanko} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Blanko}}$$

Uji BSLT

Uji aktivitas sitotoksik dilakukan dengan metode BSLT menggunakan larva udang *Artemia salina* [6]. Pertama, ditetaskan telur udang *Artemia salina* ke dalam air laut sebanyak 1L dan diberi penerangan serta diaerasi selama 24 jam. Setelah telur menetas disiapkan larutan uji dan ekstrak dilarutkan dan dibuat konsentrasi 1000, 500, 100, 50, 10 ppm dan dimasukkan 15 larva udang. Uji pada masing-masing konsentrasi selama 1x24 jam dan dilakukan secara triplo. Larutan kontrol dibuat tanpa penambahan sampel. Persen larva udang yang mati dihitung menurut persamaan:

$$\% \text{kematian} = \frac{\text{Jumlah larva mati}}{\text{Jumlah larva total awal}}$$

Harga LC_{50} didefinisikan sebagai konsentrasi ekstrak yang dapat mengakibatkan 50% larva udang mati [6]. Penentuan nilai LC_{50} dilakukan menggunakan analisa probit SPSS.

Tabel 1. Kandungan metabolit sekunder ekstrak bajakah (*Uncaria tomentosa* (Willd ex schult.) DC)

Senyawa	Ekstrak Etanol 96%	Keterangan
Alkaloid	+	Endapan coklat kemerahan
Flavonoid	+	Endapan merah kuning
Triterpenoid dan Steroid	+	Hijau kebiruan
Saponin	+	Terbentuk Busa
Tanin	+	Hijau kehitaman

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode Peredaman Radikal Bebas

Pengujian aktivitas antioksidan senyawa-senyawa bahan alam dapat dilakukan secara kimia dengan menggunakan DPPH yaitu dengan melihat proses peredaman pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Larutan DPPH yang awalnya berwarna ungu setelah

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Determinasi

Hasil determinasi oleh Laboratorium Anatomi dan Sistematika Tumbuhan Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman menyatakan bahwa tanaman akar bajakah yang digunakan pada penelitian ini adalah (*Uncaria tomentosa* (Willd ex schult.) DC dari suku Rubicidae.

Ekstraksi

Hasil proses ekstraksi maserasi serbuk akar bajakah diperoleh ekstrak sebesar 23,10 g dengan rendemen 11,55%

Partisi

Dalam proses partisi ekstrak etanol dilakukan dengan menggunakan pelarut etil asetat dan air. Hasil partisi yang diperoleh pada etil asetat sebesar 9,83 g dan pada air sebesar 4,23 g.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan sebagai uji pendahuluan secara kualitatif untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tumbuhan atau bagian tumbuhan. Hasil uji fitokimia pada ekstrak akar bajakah mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, Triterpenoid/steroid, saponin dan tanin Penelitian Saputera, *et al* (2019) menunjukkan tanaman bajakah mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan polifenol. Berikut ini merupakan hasil uji fitokimia pada ekstrak etanol bajakah.

bereaksi dengan antioksidan alami akan membentuk warna kuning. Semakin tinggi kandungan antioksidan maka warna ungu pada larutan DPPH akan semakin berkurang dan membentuk warna kuning. Hasil uji aktivitas menunjukkan bahwa semakin besar nilai persentase inhibisi maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya [8].

Tabel 2. Aktivitas Antioksidan akar bajakah (*Uncaria tomentosa* (Willd ex schult.) DC

No	Isolat	ppm	Absorbansi	Absorbansi Rata-Rata	% Hambatan	% Hambatan rata-rata
1	. Etil Asetat	100	0,093	0,092	72,32	72,61
			0,092		72,61	
			0,091		72,91	
2	Etanol 96%	100	0,086	0,086	74,40	74,40
			0,086			
			0,076		77,38	
3	Air	100	0,075	0,075	77,67	77,67
			0,074		77,97	

Uji Toksisitas dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Pengujian aktivitas sitotoksik dapat dilakukan dengan metode BSLT menggunakan larva udang *Artemia salina*. Ekstrak dari sampel akan dilihat

toksisitasnya dalam mematikan larva udang yang telah diberi perlakuan dengan konsentrasi 10, 50, 100, 500 dan 1000 ppm. Hasil pengamatan persentase kematian *Artemia salina* setelah 24 jam terlihat dalam Tabel 3.

Tabel 3. Uji BSLT dari ekstrak etil asetat akar bajakah (*Uncaria tomentos* (Willd ex Schult.) DC

Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi	Total Larva	Jumlah Larva Mati	% Mortalitas	Nilai Probit	LC50 (ppm)
Kontrol (0)	-	15	-	-	-	
10	1	15	5,66	37,73	37,73	
50	1,69	15	6	40	40	354,20
100	2	15	7,33	48,86	48,86	
500	2,69	15	8	53,33	53,33	
1000	4	15	10	66,66	66,66	

Tabel 4. Uji BSLT dari ekstrak air akar bajakah (*Uncaria tomentos* (Willd ex Schult.) DC)

Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi	Total Larva	Jumlah Larva Mati	% Mortalitas	Nilai Probit	LC50 (ppm)
Kontrol (0)	-	15	-	-	-	
10	1	15	5,33	5,53	4,59	
50	1,69	15	6,66	4,4	4,82	48,39
100	2	15	8,33	5,10	5,10	
500	2,69	15	10,66	1,06	5,62	
1000	4	15	12	0	5,84	

Berdasarkan nilai persentase kematian pada Tabel 3 dan 4 terlihat bahwa semakin besar nilai konsentrasi ekstrak, maka kematian pada larva udang *Artemia* juga semakin bsar. Dengan kata lain, secara bertahap meningkatnya kematian larva udang *Artemia* disebabkan oleh peningkatan konsentrasi dalam ekstrak [1]. Meyer *et.al* (1982) menyatakan bahwa suatu ekstrak menunjukkan toksisitas dalam BSLT jika ekstrak dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi <1000 ppm. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan pengaruh yang dihasilkan pada partisi etil asetat mampu menyebabkan

kematian 50% *Artemia salina* dengan nilai LC50 sebesar 48,39 ppm sedangkan pada air sebesar 354,20 ppm.

KESIMPULAN

Akar bajakah memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, triterpenoid dan steroid, saponin dan tanin. Hasil partisi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan partisi air dan etanol 96%. Uji aktivitas sitotoksik menunjukkan bahwa partisi etil asetat memiliki nilai LC50

sebesar 48,39 ppm dan pada air sebesar 354,20 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Apu A. S., Bhuyan, S., Khatun, F., Liza, M.S., Matin, M., Hossain, F.M., (2013). Assessment of Cytotoxic Activity of Two Medicinal Plants Using Brine Shrimp (*Artemia salina*) As an Experimental Tool, International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 4(3): 1125-1130.
- [2] Batiha, G. E., Beshbishy, A. M., & Wasef, L. (2020). *applied sciences Uncaria tomentosa (Willd ex Schult .) DC .: A Review*. 1–12.
- [3] Harborne, J. B. (1987). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB
- [4] Heitzman, M.E., Neto C.C., Winiarz, E., Vaisberg, A.J., Hammond, G.B., (2005). *Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of Uncaria (Rubiaceae)*. Phytochemistry 66, 5-29.
- [5] Kartika, R., Setianingsih, S., & Simanjuntak, P. (2017). *Isolasi Senyawa Kimia Stigmastan-3,5- Diena Yang Mempunyai Daya Toksik Dari Daun Ekaliptus (Eucalyptus Deglupta Blume.)*. Jurnal Kimia Mulawarman, 15(1), 1.
- [6] McLaughlin, J.L., and Rogers, L.L., (1998), The Use Of Biological Assays To Evaluate Botanicals, Drug Information Journal, 32: 513-517.
- [7] Meyer, B. N, N.R. Ferrigni, L.B. Jacobsen, D.E. Nichol and J.L. Melaughlin. (1982). *Brine Shrimp: A Vonvenient General Bioassay for Avtive Plant Constituents*. Planta Medica Vol.45, pp.31-34.
- [8] Molyneux, P., (2004). The Use of Stable Free Radical Diphenyl-picrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity, Songklanakarin J. Sci. Technol: 26 No 2: 211-219.
- [9] Saputera, M., Ayuchecaria, N., Saputera, A., & Ayuchecaria, N. (2018). Uji Efektivitas Ekstrak Etanolik Batang Bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk.) Terhadap Waktu Penyembuhan Luka. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699.